

トウモロコシタンパク質 Zein 由来の GLP-1 分泌促進ペプチドの探索

応用生物科学専攻 食資源学講座 食品栄養学 山田 菜央

1. 目的

グルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) は、下部消化管に多く分布する L 細胞より食事刺激に伴い分泌される消化管ホルモンで、インスリン分泌促進を介した血糖上昇抑制作用や、膵β細胞の機能改善、食欲抑制など多様な作用を有している。これらの生理作用から、GLP-1 は生活習慣病の予防や治療に有効であると期待される。糖や脂肪酸、食品ペプチドにより GLP-1 分泌が促進されるが、食品ペプチドによる GLP-1 分泌に関して、活性ペプチド構造やその受容機構については明らかにされていない。本研究では、どのようなペプチド構造が GLP-1 分泌活性を担っているか明らかにすることを目的とし、*in vivo*、*in vitro*において GLP-1 分泌を促進することが確認されているトウモロコシたんぱく質 Zein の加水分解物について、構成アミノ酸の関与の検討や、GLP-1 分泌活性ペプチドの探索を行った。

2. 方法

1) Zein 加水分解物の調製法 ①パパイン分解物 パパインを対基質 0.5%重量で添加し、中性条件下にて 55°C、60 分間処理し、可溶性の画分を凍結乾燥した。②ペプシン分解物 ペプシンを対基質 0.5%重量で添加し、酸性条件下にて 37°C、30 分処理し、中和後に可溶性の画分を凍結乾燥した。2) 等電点電気泳動による分画 上記の Zein 加水分解物をパイオラッド社ロトフォアセルに供し、等電点分画物を調製した。3) 消化管内分泌細胞株における GLP-1 分泌試験 マウス大腸由来 GLP-1 産生細胞株 GLUTag を 2 日間培養後、バッファーに溶解した試料溶液に 60 分間曝露した。上清を回収し、GLP-1 濃度を ELISA にて測定した。試料として、Zein 加水分解物およびその等電点分画物、Zein パパイン分解物構成アミノ酸混合物などを用いた。4) ペプチドの同定 活性画分について、C18 カラムを用いた逆相 HPLC に供し、分取したピークをプロテインシーケンサーにより解析した。

3. 結果と考察

Zein パパイン分解物の構成アミノ酸混合物は、ある程度の GLP-1 分泌活性を有するが、Zein パパイン分解物には及ばなかった。したがって、Zein パパイン分解物による GLP-1 分泌には、これに含まれるペプチドが寄与することが確かめられた。Zein パパイン分解物の等電点分画物では、等電点が高くなるにつれて GLP-1 分泌が高まり、最も等電点の高い画分に強い GLP-1 分泌活性が見られた。ペプシン分解物においては、弱酸性の画分にやや高い活性が見られた。また、各画分の GLP-1 分泌活性は、収量、試料溶液の pH には依存しなかった。このことから、パパイン分解物とペプシン分解物では、異なるペプチド断片が GLP-1 分泌活性成分として作用していると考えられた。さらに、パパイン分解物に含まれる塩基性ペプチドが、高い GLP-1 分泌活性を有することが示唆された。続いて、パパイン分解物の活性画分を逆相 HPLC に供し分取したピークより、一部のペプチドのアミノ酸配列が同定され、このペプチドが GLP-1 分泌活性に寄与する可能性が考えられた。

4. まとめ

Zein パパイン分解物中の塩基性ペプチドに高い GLP-1 分泌促進作用があることが示唆され、今後どのような配列が活性に寄与するのかを明らかにすることが必要と考えられる。